

1 – НОЦ «Нанотехнологии»
ФГАОУ ВПО «Российский
университет дружбы
народов», 117198,
Россия, г. Москва,
ул. Миклухо-Маклая, 6

1 – Peoples' Friendship
University of Russia, 6,
Miklukho-Maklaya str.,
Moscow, 117198, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: agentcat85@mail.ru

ФАРМАЦИЯ БУДУЩЕГО: НАНОЛЕКАРСТВА И МЕТОДЫ ИХ АНАЛИЗА (ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ)

А.И. Марахова^{1*}, В.Ю. Жилкина¹, О.А. Сацкевич¹,
Я.М. Станишевский¹

Резюме. В статье рассмотрены высокотехнологичные приборы, используемые в фармацевтической нанотехнологии, и их возможности, приведены примеры полученных результатов. Отмечено, что для изучения структуры наноматериалов информативными являются микроскопические методы анализа. При контроле качества наноструктур успешно используются приборы, позволяющие анализировать размер частиц и характер поверхности.

Ключевые слова: нанотехнологии, нанолекарство, электронная микроскопия, наносушилка, зондовая микроскопия, измерение размеров частиц, кросс-корреляция фотонов, термогравиметрический анализ.

PHARMACY OF FUTURE: NANODRUGS AND THERE ANALISIS (REVIEW)

A.I. Marakhova^{1*}, V.Yu. Zilkina¹, O.A. Satskevich¹, Ya. M. Stanishevskiy¹

Abstract. The article presents high-tech devices for pharmaceutical nanotechnology, their possibilities and examples of results. It has been noted that for the study of nanomaterials structure microscopic analysis methods are informative. During the quality control of nanostructures instruments that assess the particle size and the nature of the surface have been successfully used.

Keywords: nanotechnologies, nanomedicines, electronic microscopy, determination of particle size, photon cross-correlation, thermo-gravimetical analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Нанотехнология является одним из приоритетных научно-исследовательских направлений современности. В государственной политике прослеживается активная заинтересованность в расширении nanoиндустрии в Российской Федерации, подтверждением этому может служить создание такой структуры, как «РОСНАНО», целого ряда федеральных целевых программ по развитию nanoиндустрии [1–3], Совета национальной нанотехнологической сети, обозначение приоритетов в международном научном нанотехнологическом сообществе и др.

Роль нанотехнологий в развитии науки и технологии сейчас столь велика, что именно они определяют пути дальнейшего развития не только химии, физики, биологии, материаловедения, но всей науки и производства на ближайшие десятилетия.

Особую нишу в комплексе наук, оперирующих нанотехнологиями, занимают медицина и фармация. Полвека назад биофармация раскрыла значение лекарственной формы, определив ее как важнейший фармацевтический фактор, влияющий на

терапевтическую эффективность лекарства. Практически сразу же, параллельно с исследовательскими работами в этом направлении, были предприняты первые попытки создания лекарственных форм с заданными фармакокинетическими характеристиками. Такие лекарственные формы, как правило, имели более сложную структуру и технологию по сравнению с традиционными, их стали называть терапевтическими системами или системами доставки лекарств.

Основные цели создания системы направленной доставки актуальны и в настоящее время: пролонгирование длительности пребывания лекарственного вещества в биожидкостях (касается в первую очередь легко растворимых лекарственных субстанций), направленность действия (для особо токсичных), улучшение растворимости для повышения биодоступности (мало и плохо растворимых) [4].

Перечисленные цели достаточно удачно реализуются при использовании наноразмерных (1–100 нм) систем доставки лекарственных средств. Развитие новых инновационных лекарственных средств требует разработки новых подходов к

изучению их свойств и анализу качества [5]. Это невозможно без высокотехнологичного современного оборудования.

КОМПЛЕКС ЛАБОРАТОРИЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ НАНОСТРУКТУР

Одним из крупных центров, оснащенных уникальным оборудованием для изучения образцов на наноразмере, является научно-образовательный центр «Нанотехнологии» (НОЦ «Нанотехнологии») Российского университета дружбы народов [6, 7]. Центр осуществляет научное и методическое сотрудничество по данному направлению с такими профессиональными сообществами, как «Всероссийский фармацевтический кадровый резерв», NanoBRIGE, Российская национальная нанотехнологическая сеть, «РОСНАНО», Нанотехнологическое общество России, а также с рядом крупнейших вузов, занимающихся разработками в области нанотехнологий. Это дает возможность отечественным ученым вносить свой вклад в развитие научного направления и реализовывать подготовку высококвалифицированных специалистов для современного производства и бизнеса в области нанотехнологии.

В данном обзоре мы остановимся на основных приборах, востребованных в нанофармации.

- Создание наноструктур начинается с их моделирования. Чтобы создать любой нанообъект, нужно сначала детально разработать его структуру и технологию создания. Современные тенденции в области фармацевтики и нанотехнологий обнаруживают необходимость получения мельчайших частиц веществ с высоким выходом, при этом используя лишь очень небольшие количества исходных образцов. Эта задача может быть реализована с помощью нанораспылительной сушилки Nano Spray Dryer B-90 (BÜCHI, Швейцария), которая представляет собой прибор, разработанный специально для первоначальной оценки возможности использования технологии распылительной сушки на ранних стадиях создания продукта. Сушилка имеет ряд преимуществ, таких как эффективный процесс распыления минимальных количеств вещества (мл, мг), получения частиц субмикронного размера, узкое распределение частиц по размерам, возможность наблюдения за процессом сушки (рисунок 1).

Самым прямым путем получения информации о размере частиц, а также об их форме и распределении по размеру и форме является использование прямой визуализации с помощью микроскопических методик. В этих целях применяется световая, электронная, флюоресцентная и другие виды микроскопии.

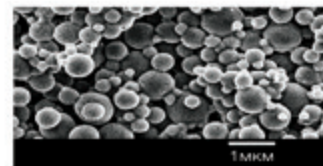


Рисунок 1. Внешний вид нанораспылительной сушилки и порошка с частицами субмикронного размера, полученного с ее помощью

Микроскопические методы исследований осуществляются с помощью специального оборудования, начиная от простого светового до электронного микроскопа.

- Микроскоп Nikon Eclipse MA 200 (Nikon, Япония) позволяет проводить оптическое микроскопирование объектов в отраженном и проходящем свете. Первоклассная оптика CFI60 от Nikon обеспечивает получение четких, высококонтрастных изображений по методу светлого и темного поля, обладающих в три раза большей яркостью, чем изображения, полученные с использованием других моделей (рисунок 2).

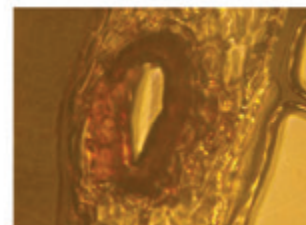


Рисунок 2. Микроскоп Nikon Eclipse MA 200 и полученное на нем изображение эфиромасличного канала препарата плода фенхеля

Представленный микроскоп имеет объектив для очень низких увеличений (1x, 2,5x) с отличной плоскостностью и объективы для высоких увеличений превосходного качества (50x, 100x).

- Остановимся на характеристиках еще одного современного микроскопа – МИМ-310-3D («Электроника», Россия), который предназначен для визуализации и исследований геометрического рельефа (рисунок 3), поляризационных и физических свойств (анизотропия, показатель преломления, фазовый состав, механическое напря-

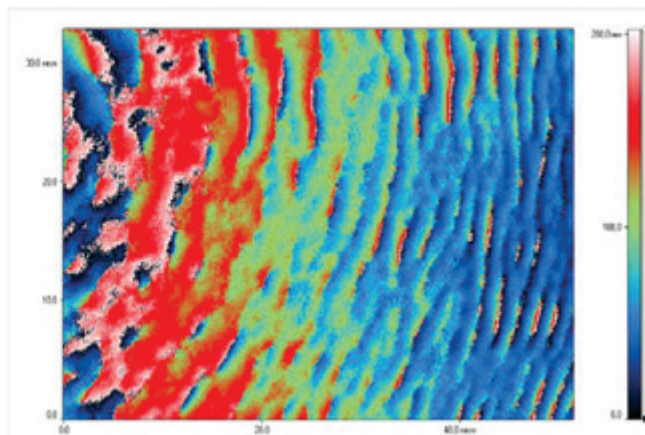
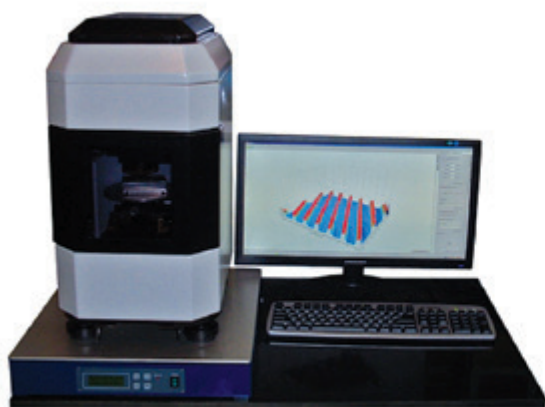


Рисунок 3. Микроскоп МИМ-310-3D и изображение рельефа поверхности образца

жение) кристаллических и полупроводниковых наноструктур, нанодинамики их изготовления.

Данный микроскоп имеет приложение для фундаментальных и прикладных исследований структур, находящихся под прозрачным покрытием (в толще исследуемого объекта). На рисунке 3 отображена шкала, относящая определенный оттенок на полученном изображении к размеру «выпуклости» данного участка.

- Еще одну возможность для проведения исследований нанобразцов предоставляет просвечивающая электронная микроскопия. Например, просвечивающий электронный микроскоп JEOL LEM-2100 (JEOL, Япония) позволяет проводить исследование морфологии неорганических материалов на наноуровне, вплоть до атомного разрешения; изучение фазового состава неорганических материалов; определение элементного и хими-

ческого состава локальных участков образцов с помощью энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии и спектроскопии характеристических потерь энергии электронов. В фармации этот вид микроскопии используется в анализе полимерных нановолокон, нанокристаллов субстанций, нанокластеров, фуллеренов, наностержней, нанопластин, нанотрубок, наночипов и наноболочек. Пример результата исследования животной клетки, полученного с помощью просвечивающей электронной микроскопии, представлен на рисунке 4.

В изучении микро- и наноструктур особое внимание следует уделять характеру поверхности. Зачастую новые уникальные свойства соединений проявляются после их тонкого измельчения в связи с многократным увеличением площади поверхности и появлением определенного рельефа.

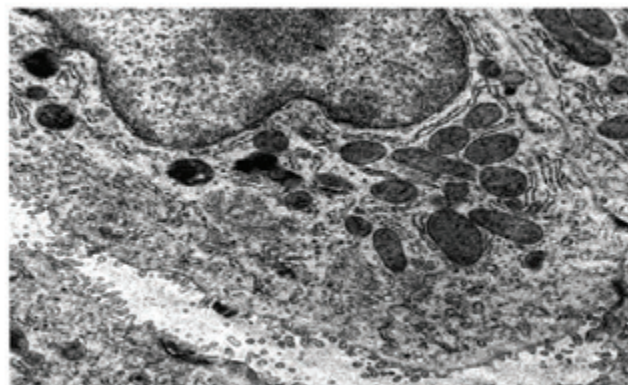


Рисунок 4. Просвечивающий электронный микроскоп и изображение структур живой клетки, полученное с его помощью

Еще одним высокотехнологичным прибором, востребованным в nanoиндустрии, является сканирующий нанотвердомер «НаноСкан-3D» («ТИСНУМ», Россия), который используется для исследования рельефа и структуры поверхностей и измерения механических свойств (в том числе твердости и модуля упругости) объемных материалов и тонких пленок на субмикронном и нанометровом масштабе.

Прибор основан на принципах сканирующей силовой микроскопии. Главной его особенностью является применение пьезорезонансного кантилевера камертонной конструкции с высокой изгибной жесткостью консоли ($\sim 2 \times 10^4$ Н/м).

- Сканирующие нанотвердомеры семейства «НаноСкан-3D» применяются для исследований механических свойств и контроля качества поверхностей нанофазных и композитных материалов, ультрадисперсных твердых и других образцов.

«НаноСкан-3D» работает в контактном динамическом режиме сканирования (рельеф поверхности / карта распределения модуля упругости), с шагом по XY 1,5 нм и с шагом по оси Z 0,15 нм, что дает возможность реализовать индентирование, склерометрию, силовую спектроскопию и динамическое наноиндентирование. Изображение в 3D-масштабе карбида кремния, полученного с помощью описанного прибора, представлено на рисунке 5.

- Аналитико-технологический комплекс ACM NTI Spectra (NT-MDT, Россия) является комбинированной системой, включающей конфокальный сканирующий лазерный спектрометр высокого пространственного разрешения, оптический микроскоп и универсальный сканирующий зондовый микроскоп.

Уникальное совмещение оптических и зондовых методов в одном приборе позволяет ставить комплексные эксперименты, в которых информация о распределении оптических свойств образца и его хими-

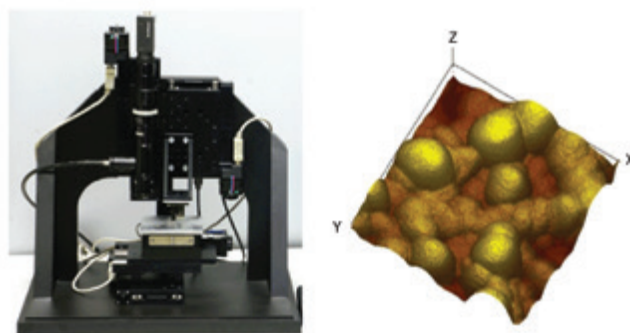


Рисунок 5. «Наноскан» и 3D-изображение поверхности карбида кремния, полученное с его помощью

ческого состава может быть наложена на распределение его механических, электрических, магнитных и других свойств. Комплекс дает возможность исследовать оптические свойства объектов за пределом дифракционных ограничений. Сканирующая ближнепольная оптическая микроскопия и эффекты локального усиления комбинационного рассеяния (КР) позволяют картировать распределение оптических свойств и осуществлять спектроскопию КР с разрешением до 50 нм в плоскости XY.

Изображение прибора и результат сканирования поверхности образца представлены на рисунке 6.

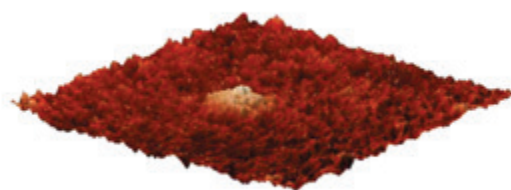
- Для выполнения ряда задач, таких как измерение шероховатости поверхности, высоты ступенек, планарности и прогиба пластин, деформаций, возникающих при нанесении тонких пленок, контроля качества микросхем и мелкотраншейной изоляции, может служить профилометр Dektak 150.

Прибор позволяет увеличить толщину образца до 6 дюймов, длину скана – до 55 мм, максимальную высоту рельефа – до 512 мкм. Повторяемость измерений высоты ступени улучшена до 6 Ангстрем.

- Следующий прибор, используемый в фармацевтике, – синхронный термоанализатор Netzsch



Рисунок 6. Аналитико-технологический комплекс ACM NTI Spectra и 3D-изображение поверхности полимерной пленки полистирола, полученное при его помощи



STA 449 F1 и квадрупольный масс-спектрометр (QMS) (NETZSCH, Италия), с помощью которого могут быть одновременно измерены изменения массы (термогравиметрия, ТГ) и калориметрические эффекты (дифференциально-сканирующая калориметрия, ДСК) в образце. Встроенные электромагнитные компенсационные микровесы с верхней загрузкой отличаются высокоточным разрешением, а также стабильностью измерений и надежностью (может быть проведено взвешивание образцов до 5 г). При синхронном термическом анализе (СТА) образец исследуется в условиях программированного изменения температуры. Собственно измеряемыми величинами являются изменение массы, абсолютная температура образца и разница температур, возникающая между образцом и эталоном. Измерения проводятся синхронно на одном и том же образце в одних и тех же условиях. При соответствующей калибровке могут быть измерены тепловые потоки к образцу и обратно. Это позволяет измерить такие калориметрические эффекты, как энтальпия, температура фазовых переходов или удельная теплоемкость образца. Масс-спектрометр позволяет получить данные об изменениях, происходящих при нагревании образца, что важно для установления примесей при термическом воздействии.

Прибор позволяет проводить опыты в диапазоне от комнатной температуры до 1600 °С.

Конструкция прибора обеспечивает стабильные и воспроизводимые базовые линии ТГ и ДСК (рисунок 7), что позволяет получить важную информацию о термическом поведении большинства различных соединений.

- Для жидких лекарственных форм с мелкодисперсной фазой, растворов, содержащих липосомы,

нанотрубки, нанокапсулы и т.д., важной характеристикой является размер частиц, распределение частиц по размерам и их стабильность во времени.

Для определения размера частиц возможно использовать анализатор Nanophox PSS (SYMPATEC GmbH) – инновационный анализатор на основе метода спектроскопии кросс-корреляции фотонов для одновременного измерения размеров частиц и стабильности в эмульсиях и суспензиях нанометрового диапазона. Спектроскопия кросс-корреляции фотонов (Photon Cross-correlation Spectroscopy, PCCS) представляет собой новую технологию для одновременного измерения размеров частиц и стабильности образцов в диапазоне от 1 нм до нескольких мкм в непрозрачных суспензиях и эмульсиях. Пример определения образца лекарственного препарата на основе наночастиц серебра представлен на рисунке 8.

Основной принцип PCCS заключается в технологии 3D-кросс-корреляции. В специальной геометрии рассеяния кросс-корреляция рассеянного света позволяет точно разделить вклад от одиночного и множественного рассеяния. Это важно, так как широко известная теория для обработки данных спектроскопии корреляции фотонов (Photon correlation Spectroscopy, PCS) возможна только для одиночного рассеяния света. Любое влияние многократно рассеянного света может привести к ошибочным результатам и неправильному толкованию. Как следствие, PCCS позволяет расширить область применения метода для непрозрачных суспензий и эмульсий.

- Культивирование клеток в стационарных условиях (температура, атмосфера, влажность) с получением высококачественных изображений можно обеспечить при помощи биостанции Nikon IM-Q (Nikon, Япония). В качестве источника проходящего света используется светодиодный освети-

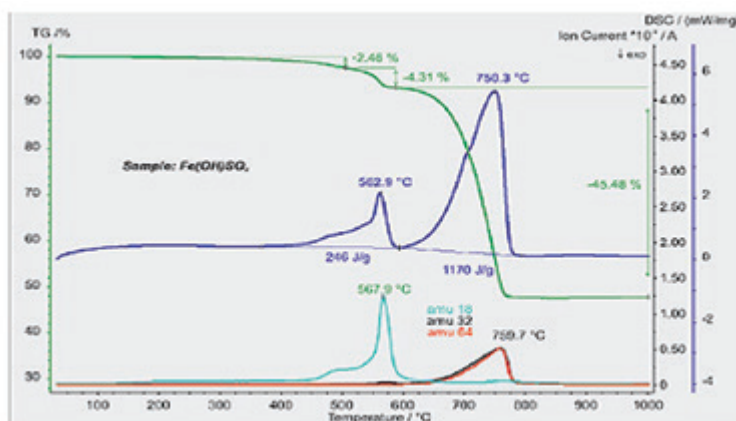


Рисунок 7. Синхронный термоанализатор и график совмещения кривых ТГ, ДСК и масс-спектрометрии при анализе разложения гидроксисульфата железа (III)

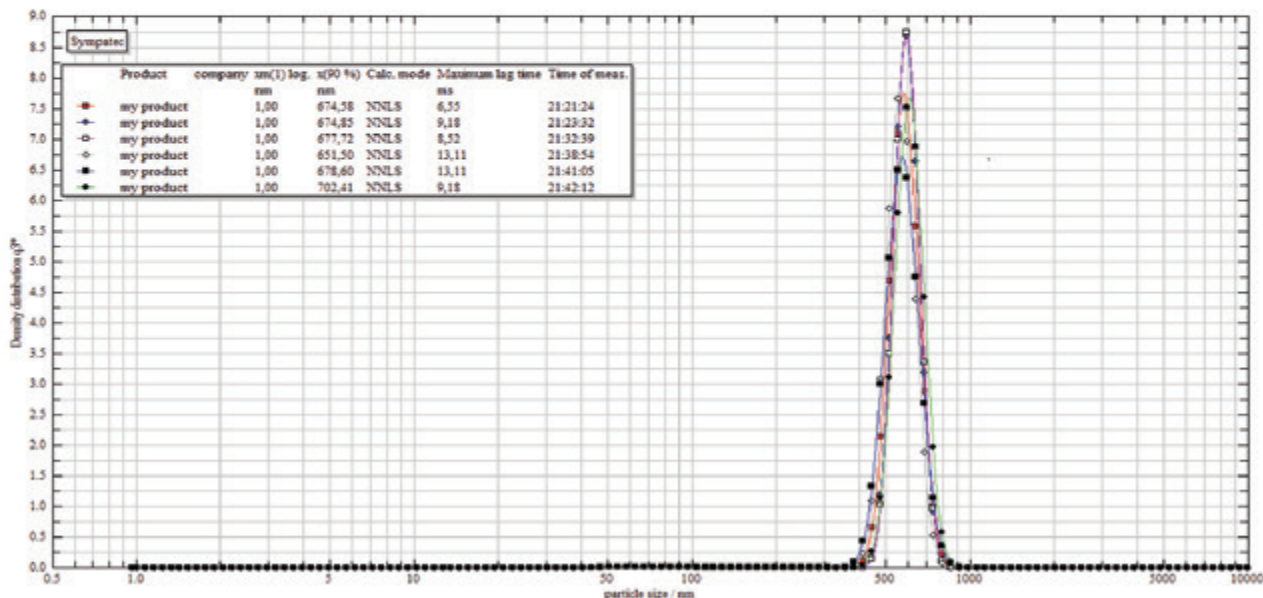


Рисунок 8. Изображение прибора и график зависимости относительной плотности распределения частиц от размера (фракционное распределение)

тель, что позволяет получить фазово-контрастные изображения высокой степени расширения. Конструкция биостанции исключает возможность смещения фокуса и отличается корпусом, устойчивым к вибрации. В комбинации с термической стабильностью, обеспечиваемой полностью интегрированной инкубационной системой, механическая стабильность биостанции позволяет исследователю производить наблюдения за культурой в течение долгих часов и даже дней без смещения фокуса. Пример результата, полученного при помощи биостанции Nikon IM-Q, представлен на рисунке 9.

- Еще один исследовательский прибор – двулучевой спектрофотометр Lambda 950 (Perkin Elmer, USA) с двойным монохроматором, позволяющий проводить анализ оптических образцов на пропускание и отражение. Прибор работает в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях (175–3300 нм) (рисунок 10).

Его уникальность состоит не только в возможности работы с растворами, но и в осуществлении

контроля пленок, красок, стекол, что может быть использовано в медицинской физике, например при создании искусственного хрусталика глаза.

Спектрофотометр Lambda-950 допускает широкий выбор методов измерения: сканирование по длине волны, сканирование по времени (кинетические исследования), сканирование по поляризации излучения и количественный анализ (фотометрия).

Высочайшая фотометрическая точность и воспроизводимость, минимальный уровень рассеянного све-



Рисунок 9. Биостанция Nikon IM-Q и фотография микроорганизмов, полученная с помощью встроенного микроскопа биостанции IM-Q

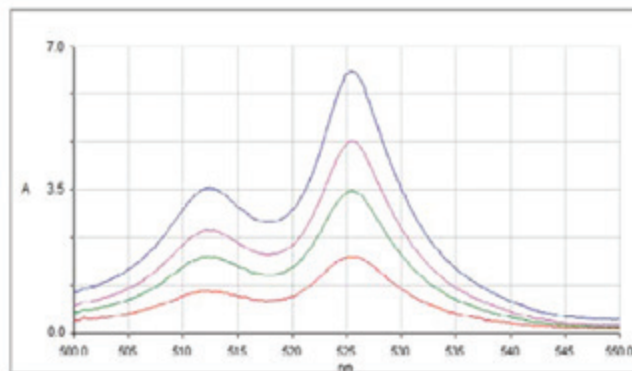
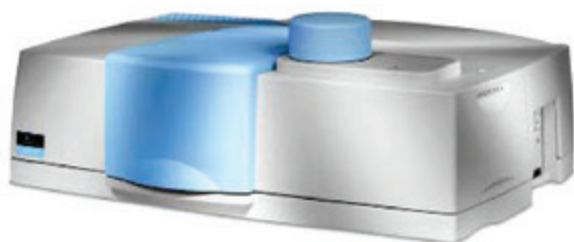


Рисунок 10. Двухлучевой спектрофотометр Lambda 950 с двойным монохроматором и абсорбционные спектры растворов галлицклокумулена

та позволяют проводить прецизионные исследования, анализ сложных образцов и образцов с высокой оптической плотностью.

Спектрофотометр снабжен несколькими аналитическими модулями:

- модулем для анализа на пропускание – для проведения классических анализов на пропускание как жидких образцов в кюветках, так и твердых образцов;

- модулем URA – универсальной приставкой для анализа на отражение с переменным углом (от 8 до 70°);

- интегрирующей сферой (60, 150 мм и сфера-детектор) для анализа рассеивающих образцов, образцов с переменной толщиной, анализа диффузного отражения порошков, твердых и жидких образцов.

Данный спектрофотометр имеет приложение в различных областях, таких как фармацевция, химия, биология, физика, оптика и т.д.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключении следует отметить, что нанофармация – наука будущего, для развития которой огромное значение имеет современное приборное оснащение, способное решать поставленные задачи с максимальной точностью.

Приведенное в статье оборудование и примеры полученных результатов показывают удобство, точность и достоверность исследований. Собранный лабораторный комплекс позволяет решать комплексные задачи, начиная от получения наночастиц фармацевтических субстанций до контроля качества готового нанолечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Постановление Правительства Российской Федерации № 498 от 2 августа 2007 г. «О федеральной целевой программе «Развитие инфраструктуры nanoиндустрии в Российской Федерации на 2008–2010 годы».
2. Постановление № 777 от 22 октября 2008 г. «О внесении изменений в федеральную целевую программу «Развитие инфраструктуры nanoиндустрии в Российской Федерации на 2008–2010 годы».
3. Распоряжение Правительства РФ № 1188-р от 25.08.2006 г. «О программе координации работ в области нанотехнологий и наноматериалов в Российской Федерации».
4. Н.Б. Демина, С.А. Скатов, А.И. Тенцова. Перспективные стратегии развития технологии наноносителей // Фармация. 2012. № 7. С. 53–55.
5. Н.Б. Демина, С.А. Скатов, А.И. Тенцова. Нанотехнологические аспекты современной лекарственной формы // Фармация. 2012. № 4. С. 47–51.
6. Фармацевтическая технология и нанотехнология: учебное пособие / Под ред. С.А. Кедика. – М. 2012. 542 с.
7. Я.М. Станишевский. Подготовка кадрового резерва для фармацевтической отрасли по магистерской образовательной программе «Инновационные технологии и нанотехнологии в медицине, фармацевтике и биотехнологии» // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2014. № 3(8). С. 28–30.
8. Официальный сайт научно-образовательного центра «Нанотехнологии» Российского университета дружбы народов. URL: <http://nano.rudn.ru/> (дата обращения 15.01.2015).